

УДК 616-092.9

DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF204415-420>

Научная статья



Действие агонистов меланокортиновых рецепторов MC3R и MC4R на компоненты полового поведения крыс-самцов, выращенных в условиях хронической социальной изоляции

И.Ю. Тиссен, Л.А. Магаррамова, М.Д. Айзуп, А.А. Лебедев, П.Д. Шабанов

Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия;

Актуальность. Меланокортины, включая α -меланоцитстимулирующий гормон (МСГ), β -МСГ, γ -МСГ и аденокортикотропный гормон, — продукты полипептида проопиомеланокортина. Эти продукты связываются с пятью различными меланокортиновыми рецепторами (MC1R, MC2R, MC3R, MC4R, MC5R) с различной аффинностью. Поскольку MC3R и MC4R являются основными типами, экспрессируемыми в мозге, эти два рецептора могут опосредовать поведенческие эффекты меланокортинов.

Цель — изучить роль MC4R в половом поведении крыс-самцов при социальной изоляции от сородичей.

Материалы и методы. В исследовании 40 наивных самцов крыс Wistar, разделенных на 4 группы, 3 из которых выращивались в условиях полной социальной и частичной сенсорной изоляции, получали 0,9 % раствор натрия хлорида, PT-141 (агонист MC3R/MC4R) в дозе 0,3 мкг внутривентриально и THIQ (агонист MC4R) в дозе 0,1 мкг интраназально. Поведенческие эффекты регистрировали в камере с недостижимым подкреплением, в которой находилась самка в фазе эструса, отделенная прозрачной перфорированной перегородкой, в течение 10 мин при красном свете. Образцы крови были взяты через 30 мин после введения препаратов из хвостовой вены. Концентрации тестостерона измерялись с помощью иммуноферментного анализа.

Результаты. Социальная изоляция не оказала существенного влияния на латентное время до попытки достичь самки, но снизила время, проведенное возле клетки с самкой. Изолированные животные в ходе опыта не демонстрировали актов груминга генитальной области. PT-141 уменьшал латентное время до подхода к самке, увеличивал время, проведенное возле камеры самки и стимулировал груминг генитальной области. THIQ уменьшал латентное время до подхода к самке и стимулировал груминг генитальной области. В то же время THIQ не оказывал влияния на время, проведенное возле камеры самки. Социальная изоляция снизила уровень тестостерона более чем в два раза по сравнению с контролем. Введение PT-141 и THIQ не оказало действия на концентрацию тестостерона.

Заключение. Полученные результаты подтверждают угнетающее действие хронического стресса социальной изоляции на половую мотивацию крыс-самцов и демонстрируют различные роли меланокортиновых рецепторов MC3R/MC4R в реализации полового поведения.

Ключевые слова: меланокортины; агонисты меланокортиновых рецепторов; половое поведение; социальная изоляция; крысы.

Как цитировать:

Тиссен И.Ю., Магаррамова Л.А., Айзуп М.Д., Лебедев А.А., Шабанов П.Д. Действие агонистов меланокортиновых рецепторов MC3R и MC4R на компоненты полового поведения крыс-самцов, выращенных в условиях хронической социальной изоляции. 2022. Т. 20. № 4. С. 415–420. DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF204415-420>

DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF204415-420>
Research Article

Effects of agonists of melanocortin receptors MC3R and MC4R on components of sexual behavior of male rats reared in condition of chronic social isolation

Ilya Yu. Tissen, Leila A. Magarramova, Mikhail D. Aizup, Andrei A. Lebedev, Petr D. Shabanov

Institute of Experimental Medicine, Saint Petersburg, Russia

BACKGROUND: Melanocortins, including α -melanocyte stimulating hormone (MSH), β MSH, γ MSH, and adrenocorticotrophic hormone, are products of the polypeptide proopiomelanocortin. These products bind to five different melanocortin receptors (MC1R, MC2R, MC3R, MC4R, MC5R) with different affinities. Because MC3R and MC4R are the major types expressed in the brain, these two receptors can mediate the behavioral effects of melanocortins.

AIM: To clear the role of MC4R in sexual behavior of male rats after social isolation from relatives.

MATERIALS AND METHODS: In the present study, 40 naive male Wistar rats divided into 4 groups, 3 of which were grown in complete social and partial sensory isolation, received saline, PT-141 (MC3R/MC4R agonist) in a dose 0.3 μ g intraperitoneally, and THIQ (MC4R agonist) in a dose 0.1 μ g intranasally. Behavioral effects were registered in a cage with unreachable reinforcement in which the female in the estrus phase, separated by a transparent perforated barrier, was kept for 10 minutes under red light. Blood samples were taken 30 minutes after administration from the tail vein. Testosterone concentrations were measured by ELISA.

RESULTS: Social isolation had no significant effect on latent time before trying to reach a female but decreased the time spent near the cage with a female. Isolated animals did not show genital grooming acts during the experiment. PT-141 decreased the latent time to approach the female, increased the time spent near the female cage, and stimulated genital grooming. THIQ decreased the latent time to reach a female and stimulated genital grooming. At the same time, THIQ had no effect on the time spent near the female cage. Social isolation reduced testosterone levels more than twice compared to controls. The administration of PT-141 and THIQ had no effect on testosterone concentration.

CONCLUSIONS: The results confirm the depressing effect of chronic social isolation stress on the sexual motivation of male rats and demonstrate different roles of melanocortin MC3R/MC4R receptors in the realization of sexual behavior.

Keywords: melanocortins; agonists of melanocortin receptors; sexual behavior; social isolation; rats.

To cite this article:

Tissen IYu, Magarramova LA, Aizup MD, Lebedev AA, Shabanov PD. Effects of agonists of melanocortin receptors MC3R and MC4R on components of sexual behavior of male rats reared in condition of chronic social isolation. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2022;20(4):415–420. DOI: <https://doi.org/10.17816/RCF204415-420>

Received: 10.10.2022

Accepted: 16.11.2022

Published: 30.12.2022

АКТУАЛЬНОСТЬ

Нейробиологические основы полового поведения включают в себя взаимосвязи между половыми стероидами и нейротрансмиттерами, которые приводят как к реализации поведенческих изменений, так и к функциональным эффектам в половых органах. Несмотря на успехи, достигнутые в изучении мужской сексуальной дисфункции, на сегодняшний день понимание картины нейрогуморальных взаимоотношений, лежащих в основе полового поведения, остается неполным.

Меланокортины — это группа небольших белковых молекул, которые имеют одну и ту же молекулу-предшественник проопиомеланокортин, включая адренокортикотропный гормон, меланоцит-стимулирующие гормоны (α -МСГ, β -МСГ и γ -МСГ), β - и γ -липотропин и β -эндорфин. На сегодняшний день описано пять рецепторов меланокортина, вовлеченных в регуляцию пигментации кожи, потребления пищи, цикла сон – бодрствование и полового поведения. В реализации полового поведения задействованы рецепторы меланокортина 3 (МС3R) и 4 (МС4R). Их экспрессия наблюдается как в головном мозге, так и в периферических нервах половых органов [6, 9].

Цель данного исследования — изучить влияние агонистов МС3R и МС4R на половую мотивацию у самцов крыс после хронической социальной изоляции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Животные. Использовали самцов крыс Вистар ($n = 40$), разделенных на 4 группы. Животные первой группы были интактными. Крыс, вошедших в остальные группы, выращивали в условиях полной социальной и частичной сенсорной изоляции с 17-го по 100-й день жизни. К началу опыта возраст животных-изолянтов и сгруппированных крыс был одинаков (90–100 дней).

Фармакологические агенты. В первой экспериментальной группе животные получали агонист МС3R/МС4R PT-141 (Nanox Biotechnology, КНР) в дозе 0,3 мкг внутривнутрибрюшинно и 0,9 % раствор натрия хлорида интраназально в дозе 20 мкл. Вторая группа получала селективный агонист МС4R THIQ (Tocris Bioscience, Великобритания) по 0,1 мкг интраназально и 0,9 % раствор натрия хлорида внутривнутрибрюшинно 300 мкл. Контрольные животные получали 0,9 % раствор натрия хлорида интраназально по 20 мкл и внутривнутрибрюшинно по 300 мкл.

Поведенческие тесты. Для оценки половой мотивации использовали камеру из плексигласа с недостижимым вознаграждением. Установка (85 × 35 × 50 см) допускает свободное передвижение и включает камеру, отделенную прозрачной перфорированной стенкой из плексигласа (высотой 15 × 35 × 50 см) и смонтированную на одной из торцевых стенок.

Перфорированная перегородка позволяет животным исследовать (нюхать) потенциального партнера (самку в стадии эструса) в камере, но препятствует тактильному взаимодействию или копуляции. За день до тестирования мотивационного поведения все экспериментальные животные были адаптированы к условиям установки в течение 30 мин [2].

Поведение регистрировали на видеозапись в темной комнате при красном свете в течение 10 мин. Между экспозициями установку и перегородку очищали 3 % раствором перекиси водорода для устранения запахов следов. Для измерения половой мотивации для каждого животного фиксировалось латентное время до начала реакции на самку, время, проведенное вблизи перегородки и груминг генитальной области.

Анализ уровня тестостерона. Образцы крови забирали через 30 мин после введения препаратов из хвостовой вены. Сыворотку отделяли путем центрифугирования (8000 об/мин). Образцы замораживали и хранили при температуре -80°C до проведения иммуноферментного анализа. Концентрации тестостерона в сыворотке крови измеряли при помощи твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-системы Тестостерон стероид-ИФА (Алкор-Био, Россия), в полном соответствии с инструкциями производителя.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Цель первой части эксперимента заключалась в измерении поведенческих аспектов половой мотивации. Социальная изоляция не оказала существенного влияния на латентное время до попытки достичь самки ($11,2 \pm 9,6$ с против $8,0 \pm 4,5$ с в контроле), но снизила время, проведенное возле клетки с самкой ($62,8 \pm 18,3$ с против $142,2 \pm 43,2$ с в контроле). Изолированные животные в ходе опыта не демонстрировали актов груминга генитальной области. PT-141 уменьшал латентное время до подхода к самке ($3,2 \pm 1,7$ с), увеличивал время, проведенное возле камеры самки ($137,2 \pm 58$ с) и стимулировал груминг генитальной области ($7,5 \pm 3,5$ с против $2,2 \pm 0,3$ с в контроле). THIQ уменьшал латентное время до подхода к самке ($4,1 \pm 0,9$ с) и стимулировал груминг генитальной области ($9,1 \pm 3,9$ с против $2,2 \pm 0,3$ с в контроле). В то же время THIQ не оказывал влияния на время, проведенное возле камеры самки ($68,9 \pm 16,1$ с) (рис. 1, а–с).

Вторая часть эксперимента включала количественное определение тестостерона в сыворотке крови. Социальная изоляция снизила уровень тестостерона более чем в два раза по сравнению с контролем ($7,5 \pm 2,9$ нмоль/мл против $14,5 \pm 6,2$ нмоль/мл в контроле). Введение PT-141 и THIQ не оказало действия на концентрацию тестостерона — $7,1 \pm 1,0$ и $7,5 \pm 2,0$ нмоль/мл соответственно (рис. 2).

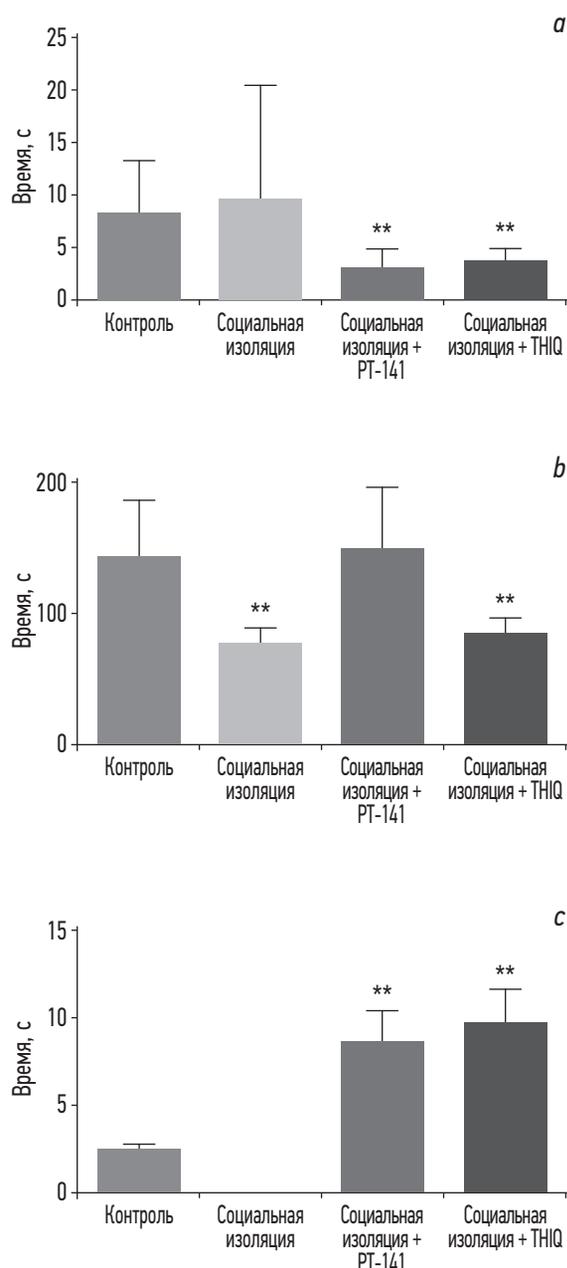


Рис. 1. Показатели полового поведения самцов крыс: *a* — латентный период до первой попытки достичь самки; *b* — время, проведенное около самки; *c* — груминг генитальной области. ** $p < 0,01$ к группе контроля

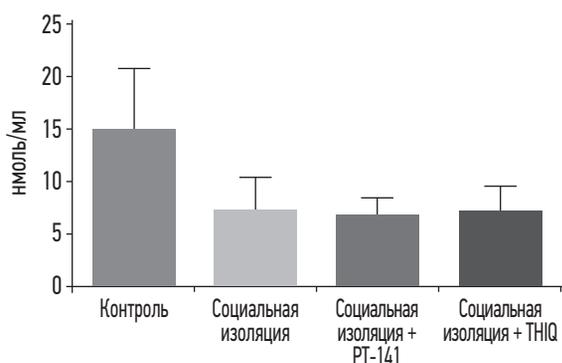


Рис. 2. Содержание тестостерона в сыворотке крови

ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Известно, что социальная изоляция в раннем возрасте нарушает репродуктивную функцию путем комплексного нарушения нейрогуморальной регуляции с вовлечением систем серотонина, гонадолиберина [3], орексина, ксипептина и других нейротрансмиттеров [4, 5]. При рассмотрении мужского полового поведения обычно выделяют 3 основных компонента: либидо, или половая мотивация, эректильная функция и консуматорное поведение, включая эякуляцию [10].

Имеются убедительные доклинические и клинические данные, подтверждающие участие меланокортиновой системы в половом поведении. Поскольку MC3R и MC4R являются основными подтипами, экспрессируемыми в мозге [1, 8], эти два рецептора могут опосредовать центральные эффекты меланокортинов. Было установлено, что введение экзогенного α -МСГ, агониста MC3R и MC4R, приводит к эрекции у грызунов. В возрасте от 3 до 6 мес. у мышей, нокаутных по MC4R, снижалась мотивация к сексуальной активности и требовалось больше времени для достижения эякуляции [8]. У мышей-самцов с нейронами, продуцирующими проопиомеланокортин, нечувствительными к лептину и инсулину, снижена выработка α -МСГ и экспрессия MC4R. У таких мышей снижена и половая мотивация, о чем свидетельствует увеличение латентного периода до первой попытки совокупления.

Различие эффектов неселективного MC3R/MC4R агониста PT-141 и селективного MC4R агониста THIQ позволяют предположить, что меланокортиновые рецепторы по-разному вовлечены в мотивацию и исполнительные компоненты полового поведения. Оба препарата стимулировали в опыте поиск потенциального партнера и груминг генитальной области, указывающий на развитие эрекции [1, 7]. В то же время только PT-141 поддерживал мотивацию поиска партнера, в то время как животные, получавшие THIQ, достаточно быстро прекращали попытки достичь самки за перегородкой. Полученные результаты позволяют предположить вовлеченность разных типов меланокортиновых рецепторов в реализацию различных компонентов полового поведения.

Анализ концентрации тестостерона в сыворотке крови позволяет сделать вывод, что действие меланокортинов обусловливается функциональными изменениями в нервной системе и не затрагивает гормональную регуляцию полового влечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты подтверждают угнетающее действие хронического стресса социальной изоляции на половую мотивацию крыс-самцов. Роли меланокортиновых рецепторов MC3R/MC4R в реализации полового поведения, вероятно, различаются. Мы предполагаем более значимое участие MC3R в мотивационных компонентах

и MC4R в реализации эрекции. Действие меланокортиновых агонистов является нейротропным и не затрагивает регуляцию уровня половых стероидов. Данные исследования создают предпосылки для поиска новых механизмов, лежащих в основе регуляции репродуктивного поведения и возможностей фармакологической коррекции сексуальных дисфункций.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Вклад каждого автора: И.Ю. Тиссен, Л.А. Магаррамова, М.Д. Айзуп, А.А. Лебедев — написание статьи, анализ данных; П.Д. Шабанов — рецензирование статьи, разработка общей концепции.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

ADDITIONAL INFORMATION

Authors' contribution. Thereby, all authors made a substantial contribution to the conception of the study, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the article, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the study. The contribution of each author: I.Yu. Tissen, L.A. Magarramova, M.D. Aizup, A.A. Lebedev — manuscript drafting, writing and pilot data analyses; P.D. Shabanov — paper reconceptualization and general concept discussion.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Argiolas A., Melis M.R., Murgia S., Schiöth H.B. ACTH- and alpha-MSH-induced grooming, stretching, yawning and penile erection in male rats: site of action in the brain and role of melanocortin receptors // *Brain Res Bull.* 2000. Vol. 51, No. 5. P. 425–431. DOI: 10.1016/s0361-9230(99)00270-1
2. Bai Y., Li Y., Lv Y., et al. Complex motivated behaviors for natural rewards following a binge-like regimen of morphine administration: mixed phenotypes of anhedonia and craving after short-term withdrawal // *Front Behav Neurosci.* 2014. Vol. 8. P. 23. DOI: 10.3389/fnbeh.2014.00023
3. Chand D., Lovejoy D.A. Stress and reproduction: controversies and challenges // *Gen Comp Endocrinol.* 2011. Vol. 171, No. 3. P. 253–257. DOI: 10.1016/j.ygcen.2011.02.022
4. Comninou A.N., Anastasovska J., Sahuri-Arisoylu M., et al. Kisspeptin signaling in the amygdala modulates reproductive hormone secretion // *Brain Struct Funct.* 2016. Vol. 221, No. 4. P. 2035–2047. DOI: 10.1007/s00429-015-1024-9
5. Di Sebastiano A.R., Yong-Yow S., Wagner L., et al. Orexin mediates initiation of sexual behavior in sexually naive male rats, but is

- not critical for sexual performance // *Horm Behav.* 2010. Vol. 58, No. 3. P. 397–404. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2010.06.004
6. Rodrigues A.R., Almeida H., Gouveia A.M. Intracellular signaling mechanisms of the melanocortin receptors: current state of the art // *Cell Mol Life Sci.* 2015. Vol. 72, No. 7. P. 1331–1345. DOI: 10.1007/s00018-014-1800-3
7. Sachs B.D., Clark J.T., Molloy A.G., et al. Relation of autogrooming to sexual behavior in male rats // *Physiol Behav.* 1988. Vol. 43, No. 5. P. 637–643. DOI: 10.1016/0031-9384(88)90219-3
8. Semple E., et al. Oxytocin Neurons enable melanocortin regulation of male sexual function in mice // *Mol Neurobiol.* 2019. Vol. 56, No. 9. P. 6310–6323. DOI: 10.1007/s12035-019-1514-5
9. Shadiack A.M., Sharma S.D., Earle D.C., et al. Melanocortins in the treatment of male and female sexual dysfunction // *Curr Top Med Chem.* 2007. Vol. 7, No. 11. P. 1137–1144. DOI: 10.2174/156802607780906681
10. Shadiack A.M., Althof S. Preclinical effects of melanocortins in male sexual dysfunction // *Int J Impot Res.* 2008. Vol. 20, Suppl 1. P. S11–S16. DOI: 10.1038/ijir.2008.17

REFERENCES

1. Argiolas A, Melis MR, Murgia S, Schiöth HB. ACTH- and alpha-MSH-induced grooming, stretching, yawning and penile erection in male rats: site of action in the brain and role of melanocortin receptors. *Brain Res Bull.* 2000;51(5):425–431. DOI: 10.1016/s0361-9230(99)00270-1
2. Bai Y, Li Y, Lv Y, et al. Complex motivated behaviors for natural rewards following a binge-like regimen of morphine administration: mixed phenotypes of anhedonia and craving after short-term withdrawal. *Front Behav Neurosci.* 2014;8:23. DOI: 10.3389/fnbeh.2014.00023
3. Chand D, Lovejoy DA. Stress and reproduction: controversies and challenges. *Gen Comp Endocrinol.* 2011;171(3):253–257. DOI: 10.1016/j.ygcen.2011.02.022
4. Comninou AN, Anastasovska J, Sahuri-Arisoylu M, et al. Kisspeptin signaling in the amygdala modulates reproductive hormone secretion. *Brain Struct Funct.* 2016;221(4):2035–2047. DOI: 10.1007/s00429-015-1024-9
5. Di Sebastiano AR, Yong-Yow S, Wagner L, et al. Orexin mediates initiation of sexual behavior in sexually naive male rats, but is not critical for sexual performance. *Horm Behav.* 2010;58(3):397–404. DOI: 10.1016/j.yhbeh.2010.06.004
6. Rodrigues AR, Almeida H, Gouveia AM. Intracellular signaling mechanisms of the melanocortin receptors: current state of the art. *Cell Mol Life Sci.* 2015;72(7):1331–1345. DOI: 10.1007/s00018-014-1800-3
7. Sachs BD, Clark JT, Molloy AG, et al. Relation of autogrooming to sexual behavior in male rats. *Physiol Behav.* 1988;43(5):637–643. DOI: 10.1016/0031-9384(88)90219-3

8. Semple E. et al. Oxytocin neurons enable melanocortin regulation of male sexual function in mice. *Mol Neurobiol.* 2019;56(9): 6310–6323. DOI: 10.1007/s12035-019-1514-5
9. Shadiack AM, Sharma SD, Earle DC, et al. Melanocortins in the treatment of male and female sexual dysfunction. *Curr Top Med Chem.* 2007;7(11):1137–1144. DOI: 10.2174/156802607780906681
10. Shadiack AM, Althof S. Preclinical effects of melanocortins in male sexual dysfunction. *Int J Impot Res.* 2008;20(Suppl 1):S11–S16. DOI: 10.1038/ijir.2008.17

ОБ АВТОРАХ

Илья Юрьевич Тиссен, канд. биол. наук, ст. научн. сотр. отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8710-9580>; eLibrary SPIN: 9971-3496; e-mail: iljatis@gmail.com

Лейла Араслановна Магаррамова, аспирант отдела нейрофармакологии им. С.В. Аничкова; e-mail: lemag-90@yandex.ru

Михаил Дмитриевич Айзуп, студент; e-mail: iljatis@gmail.com

Андрей Андреевич Лебедев, д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией общей фармакологии; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0297-0425>; eLibrary SPIN: 4998-5204; e-mail: aalebedev-iem@rambler.ru

***Петр Дмитриевич Шабанов**, д-р мед. наук, профессор, заведующий отделом нейрофармакологии им. С.В. Аничкова; адрес: Россия, 199376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1464-1127>; eLibrary SPIN 8974-7477; e-mail: pdshabanov@mail.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

AUTHORS' INFO

Illya Yu. Tissen, Cand. Sci. Biol. (Pharmacology), Senior Research Associate, Department of Neuropharmacology; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8710-9580>; eLibrary SPIN: 9971-3496; e-mail: iljatis@gmail.com

Leila A. Magarramova, Postgraduate Student, Department of Neuropharmacology; e-mail: lemag-90@yandex.ru

Mikhail D. Ayzup, Student; e-mail: iljatis@gmail.com

Andrei A. Lebedev, Dr. Sci. Biol. (Pharmacology), Professor, Head of the Laboratory, Department of Neuropharmacology; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0297-0425>; eLibrary SPIN: 4998-5204; e-mail: aalebedev-iem@rambler.ru

***Petr D. Shabanov**, Dr. Sci. (Med.), Professor; Head of the Department of Neuropharmacology; address: 12, Akademika Pavlova st., 197022, Saint Petersburg, Russia; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1464-1127>; eLibrary SPIN: 8974-7477; e-mail: pdshabanov@mail.ru